

PATENT ABSTRACTS OF JAPAN

(11)Publication number : 11-285607

(43)Date of publication of application : 19.10.1999

(51)Int.Cl.

B01D 39/16
A61M 1/02
A61M 1/22
A61M 1/22
G01N 33/48
// B01D 69/02
B01D 71/26
B01D 71/48
B01D 71/54
B01D 71/56

(21)Application number : 10-088747

(71)Applicant : TOYOBO CO LTD

(22)Date of filing : 01.04.1998

(72)Inventor : KYO MOTOKI
SAKURAI HIDEHIKO

(54) BLOOD PLASMA AND SERUM SEPARATING FILTER

(57)Abstract:

PROBLEM TO BE SOLVED: To obtain a more effective and precise filter with respect to a means of obtaining blood plasma and serum from whole blood in a short time and effectively.

SOLUTION: Relating to a blood plasma or serum separating filter that filter medium constituted of a high molecular ultrafine fiber aggregate or a porous polymer is fitted in a vessel having an inlet and an outlet, and blood is transferred in the filter medium, and the difference in moving speed between blood plasma or serum and blood corpuscle components in blood is utilized, thereby blood plasma or sera and blood corpuscle components are separated and drawn, a hydrophilic polymer is fixed to the filter medium and the hydrophilic polymer fixed during the separation and collecting is swelled to clog the filter medium and at a point in time when a certain prescribed quantity of the blood plasma or serum is obtained, the separation is automatically stopped.

LEGAL STATUS

[Date of request for examination]

[Date of sending the examiner's decision of rejection]

[Kind of final disposal of application other than the examiner's decision of rejection or application converted registration]

[Date of final disposal for application]

[Patent number]

[Date of registration]

[Number of appeal against examiner's decision of rejection]

[Date of requesting appeal against examiner's decision of rejection]

[Date of extinction of right]

Copyright (C): 1998,2003 Japan Patent Office

THIS PAGE BLANK (USPTO)

(19) 日本国特許庁 (J P)

(12) 公開特許公報 (A)

(11) 特許出願公開番号

特開平11-285607

(43) 公開日 平成11年(1999)10月19日

(51) Int.Cl. ⁸	識別記号	F I	
B 0 1 D 39/16		B 0 1 D 39/16	B
			A
A 6 1 M 1/02	5 7 5	A 6 1 M 1/02	5 7 5
1/22	5 1 0	1/22	5 1 0
	5 2 7		5 2 7
審査請求 未請求 請求項の数 5 O L (全 6 頁) 最終頁に続く			

(21) 出願番号 特願平10-88747

(22) 出願日 平成10年(1998)4月1日

(71) 出願人 000003160

東洋紡績株式会社

大阪府大阪市北区堂島浜2丁目2番8号

(72) 発明者 京 基樹

滋賀県大津市堅田二丁目1番1号 東洋紡

績株式会社総合研究所内

(72) 発明者 櫻井 秀彦

滋賀県大津市堅田二丁目1番1号 東洋紡

績株式会社総合研究所内

(54) 【発明の名称】 血漿または血清分離フィルター

(57) 【要約】

【課題】 全血から短時間で効率的に血清・血漿を得る手段において、より効率的でかつ正確なフィルターを提供する。

【解決手段】 入口と出口を有する容器内に高分子極細繊維集合体または多孔質ポリマーで構成される濾過材を装着し、濾過材中で血液を移動させ、血液中の血漿または血清と血球成分の移動速度差を利用することにより、血漿または血清と血球成分を分離採取する血漿または血清分離フィルターにおいて、親水性ポリマーが濾過材に固定化され、分離採取する間に固定化された親水性ポリマーが膨潤して濾過材が閉塞し、ある所定量の血漿または血清を得た時点で分離を自動的に停止できることを特徴とする血漿または血清分離フィルター。

【特許請求の範囲】

【請求項 1】 入口と出口を有する容器内に高分子極細繊維集合体または多孔質ポリマーで構成される濾過材を装着し、濾過材中で血液を移動させ、血液中の血漿または血清と血球成分の移動速度差を利用することにより、血漿または血清と血球成分を分離採取する血漿または血清分離フィルターにおいて、親水性ポリマーが濾過材に固定化され、分離採取する間に固定化された親水性ポリマーが膨潤して濾過材が閉塞し、ある所定量の血漿または血清を得た時点で分離を自動的に停止できることを特徴とする血漿または血清分離フィルター。

【請求項 2】 血漿または血清分離フィルターを用いて得られた血漿または血清中に血球成分が全く含まれていないことを特徴とする請求項 1 記載の血漿または血清分離フィルター。

【請求項 3】 極細繊維の集合体または多孔質ポリマーの形状が円盤状であり、円盤の外周部から中心部に向かって血液が流れ、円盤の中心部より血漿または血清を採取する請求項 1 または 2 記載の血漿または血清分離フィルター。

【請求項 4】 濾過材に使用される極細繊維または多孔質ポリマーがポリエステル、ポリプロピレン、ポリアミド、ポリエチレン、ポリウレタンまたはポリビニルホルマールからなる請求項 1 ないし 3 記載の血漿または血清分離フィルター。

【請求項 5】 濾過材に固定化される親水性ポリマーがゼラチン、ポリビニルアルコールまたはポリビニルピロリドンである請求項 1 ないし 4 記載の血漿または血清分離フィルター。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【発明の属する技術分野】本発明は、血球成分を含んだ血液から、血漿または血清を分離回収できるフィルターに関する。さらに詳しくは臨床検査に必要な血漿または血清を短時間で得ることのできる血漿または血清分離フィルターに関する。

【0002】

【従来の技術】ヒトの健康状態を観察する手段として、各種検査方法が開発され、病気の予防、診断、経過観察等に有効に利用されてきた。なかでも血液検査はその歴史が長く、最も基本的な臨床検査法である。血液検査は近年著しく進歩し、各種自動診断検査装置が開発され、検査に必要な時間もかなり短縮された。

【0003】こうした血液検査の生化学検査の多くは赤血球などの血球成分が検査値に影響を与える。そのため、採取された血液はすぐに遠心分離を行い、その上澄みとして得られる血漿、または血液を凝固させたのち遠心分離を行い、その上澄みとして得られる血清が生化学検査に必要なものとなる。すなわちほとんどの生化学検査には遠心分離が必要である。

【0004】しかし、遠心分離は 10 分以上の時間がかかるだけでなく、大型で高価な遠心分離機が必要である。特に血清を得る場合には、血液を凝固させる時間も必要であり、短時間に検査結果が得られていない。検体分離作業の運用方法などに工夫を加えて、無駄になっている時間を節約したとしても、採血から検査結果が出されるまで最短で 30 分、平均で 1 時間はかかっているのが現状である。

【0005】特に救急治療においては患者の状態をいち早く把握して的確な治療を実施することが重要であり、早急に血液検査を実施し、その結果から治療方針を判断しなければならない。

【0006】そこで上記問題を解決する手段として、一般にドライケミストリーと呼ばれる技術が知られている。これはガラス繊維などの極細繊維フィルターからなる血清分離層と、その下層に位置する反応層とから成り立つ小型プレートに微量の血液を滴下すると血清分離層にて血清が分離されその下層の反応層にて反応、発色し、これを分光光度計で測定する。このドライケミストリーは、液状の発色試薬を使わず、遠心分離による面倒な血清採取も必要としない簡便な方法であるが、測定できる項目が一般の生化学分析や免疫分析に比べて数が限られていること、一つのプレートに一つの検査項目を用いるため、複数の項目を検査するためには多数のプレートを重ねなければならず、簡便であるわりには時間的メリットが少ないこと、高価であることなどから普及するには至っていない。

【0007】

【発明が解決しようとする課題】血漿または血清を遠心分離を使わずに得る方法としては、特開昭 53-72691 号に一端が閉塞された細かいチューブ状フィルター素子を濾材として、血液から血漿を分離する方法や、特開昭 60-11166 号に中空繊維束を用いた濾過カートリッジを使用し、血液から血漿を分離する方法が提案されている。しかしながら前者の方法では蛋白質の透過率が悪い上に、血球がフィルター表面に付着するため、血漿の濾過に極めて長時間を要し、また逆に濾過速度を速くするために濾過圧を高くすると、赤血球の溶血を生じるといった問題がある。また、後者の中空繊維束を用いた濾過カートリッジを使用した方法では、血漿分離作業の準備としてプライミングによる前処理、つまり生理食塩水などで中空系膜を濡らす作業が必要となり、得られる血漿が希釈されてしまったり、血漿分離の作業そのものより準備の作業に手間がかかる問題点を有する。

【0008】また、これらの膜分離による方法は、血球と血漿・血清の分子サイズの違いによる分離法であるために、血液中の蛋白質など比較的大きな物質は膜を十分に透過できず、得られた血漿中の各蛋白質の組成は、正確に元の血液中の蛋白質の組成を反映しない問題がある。さらに膜の孔径を大きくしすぎると赤血球が目

詰まりをおこし、溶血する問題があり、実用化には至っていない。

【0009】上記とは別に繊維状フィルターを用い、臨床検査用血清または血漿分離技術が種々提案されている。特開昭61-38608号には体積濾過効果を用いた繊維質からなる固液分離器具が開示されている。特開平4-208856号にはポリアクリルエステル誘導体とポリエチレングリコールを含有するガラス繊維とレクチン含浸層からなる血清または血漿成分の分離回収方法が開示されている。また、特開平5-196620号には、特開平4-208856号で示された分離フィルターを用いた血清・血漿分離器具が開示されている。

【0010】特開平5-99918ではガラス繊維を用い全血から血漿を分離する方法が検討されている。ここでは親水化を目的としたものではなく、分離の際の溶血を防ぐために、ガラス繊維をポリビニルアルコールまたはポリ酢酸ビニルで被覆させている。

【0011】これらの方法および器具は、遠心分離を用いずに臨床検査用の血清または血漿を得ることができるものの、得られる血漿の量が100 μ Lと非常に少ない上に、繊維からの溶出や、繊維への吸着が大きく、得られた血漿中の電解質、リン、脂質の測定値が、遠心分離での値と一致しないことがあり、応用できる検査項目が限られ、ほとんど普及していない。

【0012】また特開平9-143081にはメルトブロー法で得られたポリエステル製極細繊維を用いた血清・血漿分離フィルターが開示されている。このフィルターは繊維間隙を示す平均動水半径と、血液流路長(L)と血液流路長(D)の比(L/D)、さらには繊維径、充填率を最適化することにより、得られる血清・血漿が数百 μ Lで、分離に必要な時間も一分以内で短いことと、フィルター素材と血液成分の相互作用が少なく、得られた血清・血漿中の濃度が分離前の血液と変わらないという特徴を有する。

【0013】また、特願平8-348746には三次元多孔質体を用いた、血清・血漿分離フィルターが開示されている。このフィルターは、特開平9-143081のポリエステル製極細繊維の代わりに、三次元多孔質体を用いることで、フィルターの組立性を改善している。

【0014】しかし、これらのフィルターでは分離開始直後は血清または血漿が得られるものの、0.3から1.0mlの血清または血漿を得た後、血球が混入しはじめる。血球の混入を防ぐには目視で観察し、混入しはじめる直前に分離を停止させる必要がある。そこで、十分な量の血漿または血清を得てから血球が混入しはじめるまでの間に自動的に分離を停止できるシステムがあれば、緊急に検体を得なければならないときにあわていても、非常に簡便にかつ確実に血球の混じっていない血漿または血漿を得ることができる。しかし、血球を感知できるセンサーをフィルター出口に装備するのは、装置

が大きくなるだけでなく、コストも高くなってしまふ。そこで、安価にかつ確実に血球が混入しない血漿または血清を得ることが必要である。

【0015】

【課題を解決するための手段】本発明は、下記の①乃至⑤の血漿または血清分離フィルターを提供するものである。

① 入口と出口を有する容器内に高分子極細繊維集合体または多孔質ポリマーで構成される濾過材を装着し、濾過材中で血液を移動させ、血液中の血漿または血清と血球成分の移動速度差を利用することにより、血漿または血清と血球成分を分離採取する血漿または血清分離フィルターにおいて、親水性ポリマーが濾過材に固定化され、分離採取する間に固定化された親水性ポリマーが膨潤して濾過材が閉塞し、ある所定量の血漿または血清を得た時点で分離を自動的に停止できることを特徴とする血漿または血清分離フィルター。

② 血漿または血清分離フィルターを用いて得られた血漿または血清中に血球成分が全く含まれていないことを特徴とする上記①記載の血漿または血清分離フィルター。

③ 極細繊維の集合体または多孔質ポリマーの形状が円盤状であり、円盤の外周部から中心部に向かって血液が流れ、円盤の中心部より血漿または血清を採取する上記①または②記載の血漿または血清分離フィルター。

④ 濾過材に使用される極細繊維または多孔質ポリマーがポリエステル、ポリプロピレン、ポリアミド、ポリエチレン、ポリウレタンまたはポリビニルホルマールからなる上記①ないし③記載の血漿または血清分離フィルター。

⑤ 濾過材に固定化される親水性ポリマーがゼラチン、ポリビニルアルコールまたはポリビニルピロリドンである上記①ないし④記載の血漿または血清分離フィルター。

【0016】

【発明の実施の形態】本発明による血漿、血清採取の原理は以下に述べる通りである。血液が極細繊維集合体または多孔質ポリマーで構成される濾過材中を移動するとき、血球は繊維または濾過材に衝突したりして摩擦抵抗を受けて、移動速度が低下する。しかし、血液の液状成分である血漿や血清は抵抗を受けずに移動するので、血球と血漿または血清成分には移動速度差が生じる。ここで分離長を十分に大きくして、繊維集合体の繊維径や嵩密度、多孔質ポリマーのポアサイズや空孔率を制御し、分離材中に血液を流して血球が移動してくるまでの間、血漿または血清を採取することができる。

【0017】この方法では分離を開始してからしばらくは血漿または血清が得られるが、血球成分も摩擦抵抗によって移動速度が低下するものの、次第に血漿または血清中に混入しはじめる。血球が混入すると検査値に誤差

を与えることになり好ましくない。血球が混入しないようなシステムとして、フィルターの出口部分にセンサーを取り付けることが考えられるが、装置が複雑になるばかりではなく、非常にコストがかかり好ましくない。

【0018】そこで、発明者らは親水性ポリマーが血液の水分で膨潤することに注目し、フィルター内で親水性ポリマーを膨潤させればフィルターの目詰まりが起こり圧力を与えてもそれ以上分離ができなくなるのではないかと考えた。鋭意検討した結果、親水化ポリマーを濾過材である極細繊維集合体または多孔質ポリマーに固定化し、分離中に血液によって固定化された親水性ポリマーが膨潤しはじめ、必要量の血漿または血清を得た後に膨潤した親水性ポリマーがフィルターを閉塞して、圧力を与えてもそれ以上分離ができなくなり血球の混入を防ぐことができることを見いだした。

【0019】そこで、極細繊維集合体や多孔質ポリマーを親水化するために、親水性ポリマーを固定化する方法に関して鋭意検討を実施した結果、親水性ポリマーにはゼラチン、ポリビニルアルコールまたはポリビニルピロリドンが良好であることを見いだした。使用されるポリビニルアルコールは特に限定されるものではないが、ケン化度の低い部分ケン化型ポリビニルアルコールは吸水性が高く、得られる血漿または血清を濃縮して検査値が高く測定されることと、わずかに溶血する傾向があるため、完全ケン化型ポリビニルアルコールが好ましい。また、ポリビニルアルコールの重合度が低いと、血漿または血清を分離している途中にポリビニルアルコールが溶出して血漿または血清中に混入する可能性があるため、重合度は1000以上が好ましい。

【0020】固定化する親水性ポリマーの量が多いと、膨潤するのが早すぎて分離開始してまもなくフィルターが閉塞してしまい十分な量の血漿または血清を得ることができない。逆に固定化量が少ないと、膨潤してもフィルターが閉塞するには至らないので、最適な固定化量を決定する必要がある。しかし、最適固定化量は親水性ポリマーの性質に依存する。

【0021】固定化する方法としては、特に限定されるものでなく、親水性ポリマーをグルタルアルデヒド、水溶性カルボジイミドといった化合物を用いて、極細繊維集合体や多孔質ポリマーの表面に化学的に固定化する方法、または架橋させて極細繊維集合体や多孔質ポリマーのまわりに絡ませる方法、またはただ単に極細繊維集合体や多孔質ポリマーに親水性ポリマーを付着させる方法などがある。

【0022】使用する極細繊維集合体や多孔質ポリマー、固定化する親水性ポリマーに不純物が含まれていたり、血液中のイオンなどを拘束する性質がある場合も採取された血漿または血清の電解質濃度の検査値に大きな影響を及ぼす。本発明により得られた血漿または血清分離フィルターを用いて、採取した血漿または血清の電解

質濃度が遠心分離法による血漿または血清と比べて差がないためには、電解質、金属等を含まず、イオンを拘束する性質をもたない極細繊維集合体や多孔質ポリマーを用いることが必要であるだけでなく、使用する親水性ポリマーが電解質や金属を含んでいないことが必要である。

【0023】電解質、金属等を含まず、イオンを拘束する性質をもたない極細繊維集合体または多孔質ポリマーの素材としては特に限定されるものではないが、ポリエステル、ポリプロピレン、ポリエチレン、ポリウレタン、ポリビニルホルマールが好ましい。特に、フィブリノーゲン除去でき、血清を得られるといった点でポリエステル、なかでもポリエチレンテレフタレート（PET）の極細繊維不織布集合体が好ましい。

【0024】ポリエチレンテレフタレート（PET）極細繊維不織布を濾過材として採用したとしても、固定化する親水性ポリマーによっては、親水化と同時にフィブリノーゲンを採取できなくなる。これは親水化ポリマーの固定によって蛋白の吸着を抑制する作用があるためであろう。しかし、ゼラチンをポリエチレンテレフタレート（PET）不織布に固定化する場合、たとえ固定化量を増加させたとしてもフィブリノーゲン吸着能は保持され、血清が得られるため特に好ましい。

【0025】フィルターの形状は円盤状が好ましく、円盤の外周部から中心部に向かって血液が流れ、円盤の中心部より血漿または血清を採取する手段が、分離長を十分に得ることができ、かつ血液の漏れを防ぐことが容易であり、さらに好ましい。本発明における血球成分と血漿または血清成分の分離機構は両成分の極細繊維の集合体または多孔質ポリマー中の移動速度差を利用しており従来の遠心分離法や、サイズを利用した膜分離とは根本的に異なる。極細繊維の集合体または多孔質ポリマー中の移動速度は、血漿または血清成分の方が、血球成分に比べて速いため、先に血漿または血清成分が到達し、その後血球成分が到達するので、血球成分が到達するまでの間、血液から血漿または血清を採取することができる。さらに血球成分が到達するまでに、濾過材に固定化した親水性ポリマーが膨潤してフィルターが閉塞し血球の混入を自動的に防ぐことができる。

【0026】

【実施例】以下、実施例を挙げて、本発明を具体的に説明するが、本発明はこれらに何等限定されるものではない。

【0027】〔実施例1〕分離材としてメルトブロー法によって得られた平均繊維直径1.8 μm のポリエチレンテレフタレート（PET）極細繊維不織布に親水性ポリマーであるゼラチンを付着させたものを用いた。ゼラチンを不織布に付着させる方法としては、ゼラチン0.25%水溶液に不織布を1時間浸漬した後、800rpmで5分間余分な水分を絞り出し、70℃で20時間乾燥させた。

こうして得られた親水化不織布を直径29.0mmの円形に切断したものを48枚積層し、容器に充填した。

【0028】容器には図1に示すようなものを用いて血漿または血清分離フィルターを作製した。すなわち入口として容器の上面端部に直径1.0mmの穴、出口として底面中央部に直径1.0mmの穴を有し、容器内部の直径30.0mm、厚さ7mmの円盤状容器である。

【0029】血液には抗凝固剤としてACDを用いヘマトクリット41%のウシの血液を使用し、容器の外周部から内側へ送液したところ、0.62mlの血清が採取できた時点で固定化されたゼラチンの膨潤によってフィルターが閉塞し、それ以上分離ができなくなった。得られた血清には血球成分は含まれず、生化学的検査値の値を表1に示すが、いずれも通常の遠心分離法である3000rpmにて遠心操作を10分行ったときの澄みである血漿を測定したものと大きな差はなかった。また、フィブリノーゲンも検出限界以下の15mg/dl以下であった。

【0030】〔実施例2〕上記実施例1と同様のメルトブローポリエチレンテレフタレート極細繊維不織布を用い、不織布に固定化させる親水性ポリマーとしてポリビニルアルコール（重合度1000、完全ケン化型）を用いた。ポリビニルアルコールを不織布に付着させる方法としては、ゼラチンと同様に0.1%水溶液に不織布を1時間浸漬した後、800rpmで5分間余分な水分を絞り出し、70℃で20時間乾燥させた。こうして得られた親水化不織布を直径29.0mmの円形に切断したものを48枚積層し、上記容器に充填した。

【0031】血液には実施例1と同様に抗凝固剤としてACDを用いたヘマトクリット41%のウシの血液を使用した。フィルターを用いて分離を行ったところ血漿が採取でき、血漿を0.44ml採取できたところでポリビニルアルコールの膨潤によってフィルターが閉塞し、それ以上の分離ができなくなった。得られた血清の生化学的検査値の値は表1に示すが、遠心分離による値と大きな差はなく、フィブリノーゲンは除去せず血漿が得ら

れた。

【0032】〔比較例1〕分離材としてメルトブロー法によって得られた平均繊維直径1.8μmのポリエチレンテレフタレート極細繊維不織布を処理せずにそのまま直径29.0mmの円形に切断して48枚積層し、容器に充填した。血液に抗凝固剤としてACDを用いヘマトクリット41%のウシの血液を使用し、容器の外周部から内側へ送液したところ、血清が採取でき、血清を0.33ml採取できたところで血球が混入し始めた。

10 【0033】〔比較例2〕上記と同様のメルトブローポリエチレンテレフタレート極細繊維不織布を用い、不織布に固定化させる親水性ポリマーとしてゼラチンを用いた。ゼラチンを付着させる方法としては、0.025%水溶液に不織布を1時間浸漬した後、800rpmで5分間余分な水分を絞り出し、70℃で20時間乾燥させた。こうして得られた親水化不織布を直径29.0mmの円形に切断したものを50枚積層し、上記容器に充填した。血液には抗凝固剤としてACDを用いたヘマトクリット41%のウシの血液を使用し、フィルターを用いて分離を行ったところ血清が採取でき、血清を0.60ml採取したところで血球が混入し始めた。

20 【0034】〔比較例3〕上記と同様のメルトブローポリエチレンテレフタレート極細繊維不織布を用い、不織布に固定化させる親水性ポリマーとしてポリビニルアルコールを用いた。ポリビニルアルコールを付着させる方法としては、0.01%水溶液に不織布を1時間浸漬した後、800rpmで5分間余分な水分を絞り出し、70℃で20時間乾燥させた。こうして得られた親水化不織布を直径29.0mmの円形に切断したものを58枚積層し、上記容器に充填した。血液には抗凝固剤としてACDを用いたヘマトクリット41%のウシの血液を使用し、フィルターを用いて分離を行ったところ血清が採取でき、血清を0.50ml採取したところで血球が混入し始めた。

30 【0035】

【表1】

ウシ血液 ヘマトクリット41%

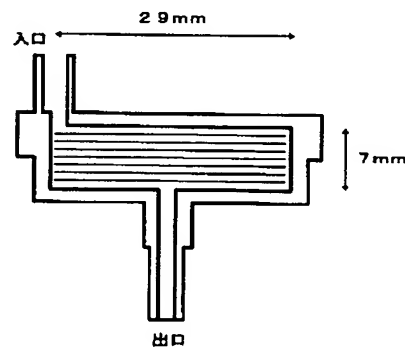
	遠心分離	実施例1	実施例2	比較例1	比較例2	比較例3
採取量(ml)		0.62	0.44	0.33	0.80	0.50
血球混入		なし	なし	あり	あり	あり
総蛋白(g/dl)	6.5	6.3	6.4	5.1	6.3	6.1
アルブミン(g/dl)	3.4	3.3	3.5	2.9	3.3	3.2
TTT(単位)	0.3	0.3	0.3	0.1	0.3	0.2
ZTT(単位)	1.1	1.2	1.2	1.1	1.2	1.1
中性脂肪(mg/dl)	15	14	15	13	14	18
Cl(mEq/l)	70	71	73	71	71	71
Na(mEq/l)	182	184	183	184	184	185
K(mEq/l)	4.6	4.7	4.7	4.6	4.7	4.6
Ca(mEq/l)	7.9	8.0	8.1	7.8	8.0	7.7
血清鉄(μ g/dl)	52	59	54	52	59	56
フィブリノーゲン(mg/dl)	204	15以下	167	15以下	15以下	42

【図面の簡単な説明】

用する容器の例を示す図である。

【図1】 本発明の血漿または血清分離フィルターに使

【図1】



フロントページの続き

(51) Int. Cl.⁶
G 0 1 N 33/48

識別記号

F I
G 0 1 N 33/48H
D// B 0 1 D 69/02
71/26
71/48
71/54
71/56B 0 1 D 69/02
71/26
71/48
71/54
71/56